

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
10. Mai 2002 (10.05.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/36621 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C07K 14/47, C12N 15/12, A61K 38/17, G01N 33/50

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CO, CR, CU, CZ, DM, DZ, EC, EE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KP, KR, LC, LK, LR, LS, MA, MG, MN, MX, NO, NZ, PL, SG, SK, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ZA.

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/12668

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(30) Angaben zur Priorität:
100 54 639.0 3. November 2000 (03.11.2000) DE

Veröffentlicht:

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): JENAPHARM GMBH & CO. KG [DE/DE]; Otto-Schott-Strasse 15, 07745 Jena (DE).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(72) Erfinder; und
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): OBENDORF, Maik [—/DE]; Paul-Schneider-Strasse 14, 99423 Weimar (DE). WOLF, Siegmund [—/DE]; Grete-Unrein-Strasse, 07745 Jena (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: JENAPHARM GMBH & CO. KG; Cramer, Eva-Maria, Otto-Schott-Strasse 15, 07745 Jena (DE).

WO 02/36621 A1

(54) Title: MEDICAL AND DIAGNOSTIC USE OF A SPECIFIC CO-ACTIVATOR FOR HUMAN NUCLEAR RECEPTORS

(54) Bezeichnung: MEDIZINISCHE UND DIAGNOSTISCHE VERWENDUNG EINES SPEZIFISCHEN CO-AKTIVATORS FÜRS HUMANE NUKLEÄRE REZEPTOREN

(57) Abstract: The invention relates to the use of a cloned gene which codes for a protein which in humans, acts as a co-activator of hormone receptors, especially of the androgen receptor; as an important component of clinical tests for diagnosing diseases in humans.

(57) Zusammenfassung: In der Erfindung wird die Anwendung eines geklonten Gens beschrieben, welches für ein Protein kodiert, das beim Menschen als Co-Aktivator von Hormonrezeptoren insbesondere des Androgenrezeptors fungiert, als wichtiger Bestandteil von klinischen Tests zur Diagnostizierung von Erkrankungen beim Menschen.

BEST AVAILABLE COPY

MEDIZINISCHE UND DIAGNOSTISCHE VERWENDUNG EINES SPEZIFISCHEN CO-AKTIVATORS FÜR
HUMANE NUKLEÄRE REZEPTOREN

In der Erfindung wird ein geklontes Gen beschrieben, welches für ein
5 Protein kodiert, das beim Menschen als Co-Aktivator von
Hormonrezeptoren – insbesondere des Androgenrezeptors – fungiert,
sowie die Anwendung dieses Co-Aktivatorproteins als wichtiger
Bestandteil von klinischen Tests zur Diagnostizierung von
Erkrankungen beim Menschen.

10 Die Superfamilie der nukleären Rezeptoren (NR), zu der mehr als 50
verschiedene Proteine gehören, ist eine Gruppe verwandter
Transkriptionsfaktoren, die die Transkription des jeweiligen Zielgens
als Reaktion auf spezifische Liganden steuern. Die Familie kann nach
bestimmten Charakteristika wie z.B. Dimerisationsstatus, Art des
15 Liganden oder Struktur des DNA-Reaktionselements, in mehrere
Subfamilien unterteilt werden (Beato et al., 2000, Human Reproduct.
Update, 6, 225-236). Charakteristisches Merkmal der NR ist die
übereinstimmende Struktur der funktionellen Domänen (mit den
Bezeichnungen A bis F) mit einer stark variablen, nur schwach
20 konservierten N-terminalen Region mit autonomer konstitutiver
Aktivierungsfunktion (AF-1), einer stark konservierten DNA-
Bindungsdomäne (DBD), die für die Erkennung von speziellen DNA-
Reaktionselementen verantwortlich ist und aus zwei Zinkfinger-
Motiven besteht, einer variablen Scharnierdomäne und einer
25 konservierten multifunktionalen C-terminalen
Ligandenbindungsdomäne (LBD) mit Dimerisations- und Liganden-
abhängiger Transaktivierungsfunktion (AF-2). Im Anschluss daran
folgt die am weitesten C-terminal gelegene Region, deren Funktion
nicht bekannt ist und die bei Rezeptoren wie z.B. PPAR
30 (Peroxisomproliferator-aktivierter Rezeptor) und RXR (Retinoid-X-
Rezeptor) fehlt (Mangelsdorf & Evans, 1995; Cell, 83, 841-850; Robyr
et al., 2000, Mol. Endocrinol., 14, 329-347). Für einige NR (z.B. AR)
wurde nachgewiesen, dass die N-terminale Region in der Lage ist, mit

- der C-terminalen Region zu interagieren (Brinkmann et al., 1999, J. Steroid Biochem. and Mol. Biol., 69, 307-313). Steroidhormonrezeptoren wie z.B. Estrogen- (ER), Progesteron- (PR), Glukokortikoid- (GR), Mineralokortikoid- (MR) und Androgenrezeptoren (AR) binden steroidale Liganden, die sich von Pregnenolon ableiten wie die Gestagene, die Estrogene, die Glukokortikoide, Mineralokortikoide und die Androgene. Die Ligandenbindung aktiviert den Rezeptor und steuert die Expression entsprechender Zielgene.
- Darüber hinaus wurde eine weitere Proteinklasse, die sog. Co-Modulatoren, als Klasse von Substanzen identifiziert, die bei der Aktivierung (Co-Aktivatoren) bzw. Repression (Co-Repressoren) der Gentranskription als Brückenmoleküle zwischen dem Transkriptionsinitiationskomplex und den NR dienen (McKenna et al., 1999, Endocr. Rev., 20, 321-347). Ein Co-Aktivator muss fähig sein, die Rezeptorfunktion zu verstärken und agonistenabhängig – aber nicht in Anwesenheit eines Antagonisten – mit der Aktivierungsdomäne von NR direkt zu interagieren. Er muss auch mit dem basalen Transkriptionsapparat interagieren, und schließlich darf er nicht selbst die basale Transkriptionsaktivität verstärken. Die meisten Co-Modulatoren interagieren mit Hilfe eines oder mehrerer LXXLL-Motive (NR-Boxes) mit der AF-2-Domäne von NR, jedoch wurden auch einige Co-Modulatoren beschrieben, die mit anderen NR-Regionen interagieren (Ding et al., 1998, Mol. Endocrinol., 12, 302-313). Darüber hinaus interagieren viele identifizierte Co-Modulatoren in ähnlicher Weise mit mehreren verschiedenen NR, so dass der Spezitätsgrad jedes isolierten Co-Modulators getestet werden muss. Um neue potenzielle Co-Aktivatoren zu identifizieren, wurde eine cDNA-Bibliothek aus fetalem Gehirn mit Fragmenten des Androgenrezeptors (AR) als Sonden gescreent. Dies geschah mit Hilfe des Hefe-zwei Hybrid-Systems.

Mit der Erfindung wird ein spezifischer Co-Modulator für den humanen AR isoliert mit einer Interaktion zwischen AR und RanBPM.

Das Gen für den Co-Modulator (RanBPM) wird als ein aus 500 Aminosäureresten bestehendes Protein mit einem Molekulargewicht von 55 kD beschrieben, das in dem an der Nukleation der Mikrotubuli beteiligten Zentrosom lokalisiert ist (GenBank: NM_005493)

5 (Nakamura et al., 1998, J. Cell. Biol., 143, 1041-1052).

Die vorliegende Erfindung ermöglicht durch die Klonierung und Reproduktion des AR-Aktivatorgens die Entwicklung neuer Labortests zur Prüfung der Androgenspezifität potenzieller therapeutisch wirksamer Substanzen.

10 Die Erfindung eignet sich besonders zur

- Verwendung von RanBPM als Zielort für die medikamentöse Beeinflussung von NR-abhängigen Hormonsignalen,

- Verwendung von RanBNPM als Zielort für das Screening arzneilich wirksamer Substanzen, die chemische Signale durch Interaktion mit nukleären Rezeptoren übertragen und

- gezielten medikamentösen Beeinflussung der Interaktion zwischen RanBPM und Steroidhormonrezeptoren.

Darüber hinaus stellt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur In-vitro-Testung des hormonellen, insbesondere des androgenen bzw.

20 antiandrogenen, Effekts von chemischen Substanzen dar. Diese Testung umfasst beispielsweise folgende Schritte

- a) Transformation der Wirtszellen mit Hilfe eines genetischen Konstrukts, welches bewirkt, dass die Wirtszelle sowohl humanes NR-Protein als auch RanBPM-Protein produziert,

25 b) Einwirkenlassen der chemischen Substanz auf die transformierten Wirtszellen und

- c) Messung der Transkriptionsaktivität, die der nukleäre Rezeptor in Anwesenheit von RanBPM auslöst.

Weitere Ziele, Vorteile und Eigenschaften der vorliegenden Erfindung sind aus der folgenden Spezifikation ersichtlich.

Abbildung 1/1 enthält eine schematische Darstellung des AR mit Kennzeichnung der von AS 57 bis AS 324 reichenden AR-Domäne, die 5 zur Interaktion mit RanBPM fähig ist.

Die vorliegende Erfindung wird durch die Isolierung eines neuen Steuerungsproteins beim Menschen ermöglicht. Bei diesem Steuerungsprotein handelt es sich um das NR-assoziierte Protein, das 10 hier als RanBPM bezeichnet wird und einen Co-Mediator, insbesondere einen Co-Aktivator für den AR und weitere nukleäre Rezeptoren darstellt, z.B. für die Rezeptoren ER, PR, GR, MR, TR (Schilddrüsenhormon-Rezeptor), VDR (Vitamin-D-Rezeptor), PPAR, RAR (Retinoid-A-Rezeptor) und RXR. RanBPM ist ein Protein, das als 15 spezifischer Co-Mediator fungieren kann, indem es den Transkriptionseffekt der Bindung von Hormonen an den nukleären Rezeptor verstärkt oder reprimiert und darüber hinaus die Bindung und Aktivierung des nukleären Rezeptors durch Moleküle fördert, denen früher keine hormonelle Wirkung zugeschrieben wurde.

20

Im Folgenden wird die vorliegende Erfindung anhand von AR als Beispiel veranschaulicht.

Mit Hilfe des zweifach hybridisierten Hefe-Systems wurde eine cDNA-Bibliothek aus fetalem Gehirn mit dem humanen AR-Fragment, das für 25 die Aminosäuren 57 bis 324 kodiert, als Sonde gescreent (Abbildung 1). Ein beim Screenen isolierter cDNA-Klon war nicht von einem bereits früher identifizierten cDNA-Klon (RanBPM) unterscheidbar (Genbank-Zugangsnummer NM_005493; Nakamura et al. 1998, J. Cell. Biol., 143, 1041-1052).

30 Es wird insbesondere erwartet, dass RanBPM ein besonderes Anwendungsgebiet als Bestandteil eines Arzneimittel-Prüf- oder -Screeningprotokolls haben wird. Bei der Evaluation neuer klinischer

Substanzen für die pharmazeutische Anwendung ist es allgemein üblich, die Substanzen auf eine eventuelle hormonelle Aktivität zu prüfen. Bei der Verabreichung pharmakologisch wirksamer Substanzen sind androgene oder antiandrogene Nebenwirkungen in 5 manchen Fällen von Bedeutung. Zur Prüfung der androgenen Aktivität dienten früher Verfahren, bei denen die Fähigkeit zur Bindung und Aktivierung der Transkriptionsaktivität der Androgenrezeptoren gemessen wurde.

Es wird auch erwartet, dass RanBPM Verwendung als wichtiger 10 klinischer Indikator androgenbedingter Erkrankungen finden wird. Relevante androgenbedingte Erkrankungen, wie z.B. Prostatakrebs, Glatzenbildung, Akne oder Hypogonadismus, sowie Androgenresistenzsyndrome, wie z.B. die testikuläre Feminisierung, beruhen möglicherweise auf Defekten im Co-Modulationsmechanismus 15 zwischen AR und RanBPM-Molekül. Eine plausible diagnostische Möglichkeit bei Patienten mit derartigen Störungen bestünde somit in der Messung der relativen Raten von AR und RanBPM. Dies ist möglich durch Anwendung quantitativer Verfahren zur Messung der relativen Menge beider Moleküle bei dem jeweiligen Patienten, bei 20 denen Antikörper sowohl gegen AR als auch gegen RanBPM gebildet werden. Es gibt mehrere Verfahren zur Messung dieser komparativen Raten: Radioimmunassay, ELISA-Test, Immunfärbung, RT-PCR oder Western Blot. Darüber hinaus wäre es möglich, mit Hilfe von RanBPM- 25 cDNA Sonden für ein PCR-Assay zu konstruieren, mit dem sich bei bestimmten Patienten Mutationen der normalen DNA-Sequenz nachweisen oder Transkripte für den Northern Blot Assay bzw. eine DNA für In-situ-Hybridisierungsassays generieren lassen.

Derartigen Messungen der relativen Raten von AR versus RanBPM liegt die Theorie zugrunde, dass ein Androgenresistenzsyndrom auf 30 einer Störung des Gleichgewichts zwischen AR- und RanBPM-Prävalenz in den Zielzellen beruht. Zuviel RanBPM könnte zu einer Überempfindlichkeit des AR-Systems führen, so dass es auf Moleküle reagiert, die normalerweise keinen androgenen Effekt haben.

- Unterempfindlichkeit durch Fehlen oder Fehlfunktion von RanBPM kann auf allen Ebenen zur Androgenresistenz führen. Der Nachweis von zu viel RanBPM bei einem Patienten spräche für die Anwendung von Mitteln zur Down-Regulation wie z.B. Antisense- oder ähnlichen Mechanismen, um unter klinischen Bedingungen den RanBPM-Titer bei dem jeweiligen Patienten zu reduzieren. Dasselbe könnte durch Moleküle erreicht werden, die in der Lage sind, die Interaktion zwischen AR und RanBPM zu hemmen. Hat ein Patient zu wenig RanBPM, könnte man ihm RanBPM-cDNA, -Protein oder -DNA über verschiedene Mechanismen zuführen, um auf diese Weise den Titer des aktiven RanBPM zu erhöhen. Möglich wäre auch eine Anhebung der Konzentration oder der Aktivität von RanBPM durch niedrigmolekulare Arzneimittel oder durch Stimulation der Eigensynthese mit Hilfe RanBPM-Promoter-spezifischer Proteine.
- Das RanBPM-Molekül könnte aber nicht nur zur Testung von Substanzen auf ihre potenzielle Eignung zur pharmazeutischen Anwendung, sondern auch zur Testung nicht-pharmazeutischer Substanzen auf eine potenzielle androgene bzw. antiandrogene Wirkung nützlich sein. Denn von vielen, in geringen Mengen in der Umwelt vorhandenen Verunreinigungen wird angenommen, dass sie bei verschiedenen Teilen der Bevölkerung eine androgene/antiandrogene bzw. estrogene/antiestrogene Aktivität aufweisen.
- Um Substanzproben auf ihre eventuelle androgene/antiandrogene Wirksamkeit zu prüfen, könnten genetische Konstrukte wie Expressionskassetten sowohl für den Androgenrezeptor als auch für RanBPM in vitro in eukaryote Wirtszellen transformiert werden, z.B. in Prostata-, Nerven- oder Muskelzelllinien. Dabei könnte gleichzeitig auch ein leicht nachweis- und quantifizierbares Detektorgen in die Zellen transformiert werden. Ein geeignetes Detektorgen (Reportergen) wäre das für Luciferase, für CAT (Chloramphenicolazetyltransferase), für β -Galaktosidase oder für ähnliche Systeme kodierende Gen, dessen Expression sich

photometrisch nachweisen lässt. Die Zellen werden dann der Einwirkung des Arzneimittels bzw. des aus der Umwelt stammenden Testmaterials ausgesetzt. Material mit androgen/antiandrogen Aktivität ist dann an der erhöhten bzw. verminderter Aktivität des 5 Reportergens erkennbar. Möglich wäre auch die Messung des Einflusses von Testmaterial auf die AR/RanBPM-Interaktion durch doppelt-hybride Systeme, Immunpräzipitation, GST-Pull-down-Assays, Gelretardationsassays, FRET-Analyse, ABCD-Assays etc.

10. BEISPIEL

Unter Verwendung einer cDNA-Library aus fetalem Gehirn und eines humanen AR-Fragments, das für die Aminosäuren 57 bis 324 kodiert, als Sonde (Abbildung 1) wurde ein Screening mittels des Hefe-zwei Hybrid-Systems durchgeführt. In Übereinstimmung mit den 15 Anweisungen des Herstellers (Clontech) betrug die Zahl der gescreenten Klone 3×10^6 , entsprach also fast der Zahl unabhängiger Klone laut Angaben des Herstellers ($3,5 \times 10^6$). Davon wurden 500 positive Klone ausgewählt und mit einem β -Galaktosidase-Assay getestet; 200 wurden als lacZ-positive Klone bestätigt. Die Inserts 20 dieser Klone wurden durch PCR amplifiziert. Mittels Restriktionsfragmentanalysen und Sequenzierung wurden mindestens 17 verschiedene Klone identifiziert. Einer davon war ein Klon mit einem 2500bp-Insert, das für den gesamten ORF (Open reading frame) von RanBPM kodiert (Genbank-Zugangsnummer NM_005493). 25 Dieser Klon wurde beim Screening der Bibliothek einmal identifiziert. Hier weisen wir mittels zweifach hybridisiertem Hefe-System nach, dass RanBPM an humane AR bindet. Damit wird erstmals die Co-Aktivatorfunktion des RanBPM-Proteins für Steroidrezeptoren (z.B. AR) nachgewiesen. Diese Interaktion eröffnet die Möglichkeit einer 30 spezifischen therapeutischen Intervention bei verschiedenen Indikationen, an deren Pathogenese oder Therapie Hormone beteiligt sind.

Patentansprüche

1. Die Verwendung von RanBPM als Zielmolekül für die medikamentöse Beeinflussung eines von nukleären Rezeptoren abhängigen Hormonsignalsystems
5
2. Die Verwendung von RanBPM als Zielmolekül für das Screening arzneilich wirksamer Substanzen, die chemische Signale durch Interaktion mit nukleären Rezeptoren übertragen
3. Die Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass der nukleäre Rezeptor aus der Gruppe folgender Rezeptoren ausgewählt wird: Androgenrezeptor (AR), Estrogenrezeptor α (ER α), Estrogenrezeptor β (ER β), Progesteronrezeptor A (PRA), Progesteronrezeptor B (PRB), Glukokortikoidrezeptor (GR) und Mineralokortikoidrezeptor (MR)
10
4. Die pharmazeutische Intervention (gezielte medikamentöse Beeinflussung) der Interaktion zwischen RanBPM und Steroidhormonrezeptor
15
5. Die pharmazeutische Intervention entsprechend Punkt 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass der nukleäre Rezeptor aus der Gruppe der folgenden Rezeptoren ausgewählt wird: Androgenrezeptor (AR), Estrogenrezeptor α (ER α), Estrogenrezeptor β (ER β), Progesteronrezeptor A (PRA), Progesteronrezeptor B (PRB), Glukokortikoidrezeptor (GR) und Mineralokortikoidrezeptor (MR)
20
6. Ein Verfahren zur Testung des hormonellen, speziell des androgenen bzw. antiandrogenen In-vitro-Effekts einer chemischen Substanz, bestehend aus folgenden Schritten:
a) Transformation der Wirtszellen mit Hilfe eines genetischen Konstrukts, welches bewirkt, dass die Wirtszellen künftig sowohl
30 humanes nukleäres Rezeptorprotein als auch RanBPM-Protein produzieren,

b) Exposition der transformierten Wirtszellen gegenüber der chemischen Substanz und

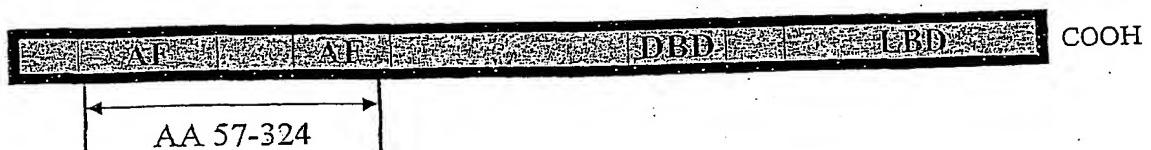
c) Messung der Transkriptionsaktivität des nukleären Rezeptors in Anwesenheit von RanBPM

- 5 7. Das in Anspruch 6 genannte Verfahren, dadurch gekennzeichnet, dass eukaryote Zellen als Wirtszellen verwendet werden
- 10 8. Das in Anspruch 7 genannte Verfahren, dadurch gekennzeichnet, dass Prostatazellen, Nervenzellen oder Muskelzellen als eukaryote Zellen verwendet werden
- 15 9. Das in den Ansprüchen 6 bis 8 genannte Verfahren, dadurch gekennzeichnet, dass ein Arzneimittel als chemische Substanz verwendet wird
- 20 10. Das in den Ansprüchen 6 bis 8 genannte Verfahren, dadurch gekennzeichnet, dass die chemische Substanz in Testmaterial aus der Umwelt enthalten ist
11. Das in den Ansprüchen 6 bis 10 genannte Verfahren, dadurch gekennzeichnet, dass ein nukleärer Rezeptor aus der Gruppe der folgenden Rezeptoren ausgewählt wird: Androgenrezeptor (AR), Estrogenrezeptor α (ER α), Estrogenrezeptor β (ER β), Progesteronrezeptor A (PRA), Progesteronrezeptor B (PRB), Glukokortikoidrezeptor (GR) und Mineralokortikoidrezeptor (MR)

1/1

**Schematische Darstellung des Proteins für den humanen
Androgenrezeptor (AR)**

und das Fragment (AA 57-324), das mit RanBPM interagiert



AF: Aktivierungsfunktion

DBD: DNA-Bindungsdomäne

LBD: Liganden-Bindungsdomäne

AA: Aminosäure

Abbildung 1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 01/12668

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07K14/47 C12N15/12 A61K38/17 G01N33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

BIOSIS, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, SEQUENCE SEARCH, SCISEARCH, MEDLINE,
BIOTECHNOLOGY ABS, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>NAKAMURA M ET AL: "WHEN OVEREXPRESSED, A NOVEL CENTROSOMAL PROTEIN, RANBP1, CAUSES ECTOPIC MICROTUBULE NUCLEATION SIMILAR TO GAMMA-TUBULIN" THE JOURNAL OF CELL BIOLOGY, ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS, US, vol. 143, no. 4, 16 November 1998 (1998-11-16), pages 1041-1052, XP000872664 ISSN: 0021-9525 cited in the application the whole document</p> <p>---</p> <p>-/-</p>	2,3,6-11



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 March 2002

Date of mailing of the international search report

22/03/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

De Kok, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 01/12668

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MCKENNA N J ET AL: "NUCLEAR RECEPTOR COREGULATORS: CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY" ENDOCRINE REVIEWS, BALTIMORE, MD, US, vol. 20, no. 3, June 1999 (1999-06), pages 321-344, XP002921971 page 321 -page 334 ---	2,3,6-11
A	WO 00 12544 A (UNIV BOSTON (US)) 9 March 2000 (2000-03-09) the whole document ---	2,3,6-11
A	WO 98 12327 A (UNIV TEXAS (US)) 26 March 1998 (1998-03-26) page 289 -page 290 ---	2,3,6-11
T	DING XIU FEN ET AL: "Nuclear receptor-binding sites of coactivators glucocorticoid receptor interacting protein 1 (GRIP1) and steroid receptor coactivator 1 (SRC-1): Multiple motifs with different binding specificities." MOLECULAR ENDOCRINOLOGY, vol. 12, no. 2, February 1998 (1998-02), pages 302-313, XP001040351 ISSN: 0888-8809 abstract ---	3,11
T	NISHITANI H ET AL: "Full-sized RanBPM cDNA encodes a protein possessing a long stretch of proline and glutamine within the N-terminal region, comprising a large protein complex" GENE: AN INTERNATIONAL JOURNAL ON GENES AND GENOMES, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, vol. 272, no. 1-2, 11 July 2001 (2001-07-11), pages 25-33, XP004274836 ISSN: 0378-1119 the whole document -----	2,3,6-11

Continued from box I.1

Although the claims relate to a method for treating the human/animal body, the search was carried out and was based on the cited effects of the compound/composition.

Continued from box I.1

Claim nos.: 1, 4, 5

Insofar as the subject matter of claims 1 and 4 is clear, it relates to a method for the treatment of the human or animal body by therapy, for which no search is required according to Rule 39.1(iv). Compositions or compounds which can be used in this treatment are not disclosed in the application and therefore cannot be searched.

Continued from box I.2

Claim nos.: 2, 3, 6-11, in part

Patent claims 2, 3, 6-11 each relate to a product (RanBPM) that is characterised by a desirable characteristic or property, namely that of binding to Ran protein.

The patent claims therefore cover all proteins, etc which have this property or characteristic, while the patent application only provides support in the description for one product, etc, within the meaning of PCT Art. 5. In the present case, the patent claims lack the appropriate support or the patent application lacks the required disclosure to the extent that a meaningful search covering the entire scope of protection sought seems impossible. Notwithstanding this, the patent claims also lack the clarity required in PCT Art. 6, since they attempt to define the product by the desired result, respectively. This lack of clarity is also such that a meaningful search covering the entire scope of protection sought is impossible. The search therefore focused on those parts of the patent claims which appear to be clear, supported or disclosed within the above meaning, i.e. the parts relating to the product RanBPM published by Nakamura et al. under gene bank access number NM_005493 (=EMBL-access number AB008515).

The applicant is advised that patent claims relating to inventions for which no international search has been produced cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). As a general rule, the EPO in its capacity as the authority entrusted with the task of carrying out an international preliminary examination will not conduct a preliminary examination for subjects in respect of which no search has been provided. This also applies to cases where the patent claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or to cases where the applicant presents new patent claims in the course of the PCT Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 01/12668

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 0012544	A	09-03-2000	AU EP WO	5901199 A 1107987 A2 0012544 A2		21-03-2000 20-06-2001 09-03-2000
WO 9812327	A	26-03-1998	AU WO	4586697 A 9812327 A2		14-04-1998 26-03-1998

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/12668

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 7 C07K14/47 C12N15/12 A61K38/17 G01N33/50

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 IPK 7 C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BIOSIS, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, SEQUENCE SEARCH, SCISEARCH, MEDLINE,
 BIOTECHNOLOGY ABS, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	NAKAMURA M ET AL: "WHEN OVEREXPRESSED, A NOVEL CENTROSOMAL PROTEIN, RANBP1, CAUSES ECTOPIC MICROTUBULE NUCLEATION SIMILAR TO GAMMA-TUBULIN" THE JOURNAL OF CELL BIOLOGY, ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS, US, Bd. 143, Nr. 4, 16. November 1998 (1998-11-16), Seiten 1041-1052, XP000872664 ISSN: 0021-9525 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	2,3,6-11

-/-



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
11. März 2002	22/03/2002
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter De Kok, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/12668

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	MCKENNA N J ET AL: "NUCLEAR RECEPTOR COREGULATORS: CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY" ENDOCRINE REVIEWS, BALTIMORE, MD, US, Bd. 20, Nr. 3, Juni 1999 (1999-06), Seiten 321-344, XP002921971 Seite 321 -Seite 334 ---	2,3,6-11
A	WO 00 12544 A (UNIV BOSTON (US)) 9. März 2000 (2000-03-09) das ganze Dokument ---	2,3,6-11
A	WO 98 12327 A (UNIV TEXAS (US)) 26. März 1998 (1998-03-26) Seite 289 -Seite 290 ---	2,3,6-11
T	DING XIU FEN ET AL: "Nuclear receptor-binding sites of coactivators glucocorticoid receptor interacting protein 1 (GRIP1) and steroid receptor coactivator 1 (SRC-1): Multiple motifs with different binding specificities." MOLECULAR ENDOCRINOLOGY, Bd. 12, Nr. 2, Februar 1998 (1998-02), Seiten 302-313, XP001040351 ISSN: 0888-8809 Zusammenfassung ---	3,11
T	NISHITANI H ET AL: "Full-sized RanBPM cDNA encodes a protein possessing a long stretch of proline and glutamine within the N-terminal region, comprising a large protein complex" GENE: AN INTERNATIONAL JOURNAL ON GENES AND GENOMES, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, BARKING, GB, Bd. 272, Nr. 1-2, 11. Juli 2001 (2001-07-11), Seiten 25-33, XP004274836 ISSN: 0378-1119 das ganze Dokument ---	2,3,6-11

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.1

Obwohl die Ansprüche sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

Fortsetzung von Feld I.1

Ansprüche Nr.: 1, 4, 5

Insofern der Gegenstand der Ansprüche 1 und 4 klar ist, bezieht er sich auf ein Verfahren zur therapeutischen Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers, wofür nach Regel 39.1(iv) keine Recherche durchgeführt werden muss. Zusammensetzungen oder Verbindungen, die in dieser Behandlung eingesetzt werden können sind in der Anmeldung nicht offenbart und können deshalb auch nicht recherchiert werden.

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 2, 3, 6-11, teilweise

Die geltenden Patentansprüche 2, 3, 6-11 beziehen sich auf ein Produkt (RanBPM), jeweils charakterisiert durch eine erstrebenswerte Eigenheit oder Eigenschaft, nämlich das es an Ran Protein bindet. Die Patentansprüche umfassen daher alle Produkte etc., die diese Eigenheit oder Eigenschaft aufweisen, wohingegen die Patentanmeldung Stütze durch die Beschreibung im Sinne von Art. 5 PCT nur für ein Produkt etc. liefert. Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Maße, daß eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint. Desungeachtet fehlt den Patentansprüchen auch die in Art. 6 PCT geforderte Klarheit, nachdem in ihnen versucht wird, das Produkt über das jeweils erstrebte Ergebnis zu definieren. Auch dieser Mangel an Klarheit ist dergestalt, daß er eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich macht. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, welche im o.a. Sinne als klar, gestützt oder offenbart erscheinen, nämlich die Teile betreffend das Produkt RanBPM offenbart durch Nakamura et al. unter Genbank-Zugangsnummer NM_005493 (=EMBL-Zugangsnummer AB008515).

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige

WEITERE ANGABEN	PCT/ISA/ 210
	<p>Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.</p>

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/12668

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 0012544	A 09-03-2000	AU 5901199 A EP 1107987 A2 WO 0012544 A2	21-03-2000 20-06-2001 09-03-2000
WO 9812327	A 26-03-1998	AU 4586697 A WO 9812327 A2	14-04-1998 26-03-1998

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

BERICHTIGTE FASSUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
10. Mai 2002 (10.05.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/036621 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C07K 14/47, C12N 15/12, A61K 38/17, G01N 33/50

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/12668

(22) Internationales Anmeldedatum:
1. November 2001 (01.11.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 54 639.0 3. November 2000 (03.11.2000) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): JENAPHARM GMBH & CO. KG [DE/DE]; Otto-Schott-Strasse 15, 07745 Jena (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): OBENDORF, Maik [DE/DE]; Paul-Schneider-Strasse 14, 99423 Weimar (DE). WOLF, Siegmund [DE/DE]; Grete-Unrein-Strasse, 07745 Jena (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: JENAPHARM GMBH & CO. KG; Cramer, Eva-Maria, Otto-Schott-Strasse 15, 07745 Jena (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CO, CR, CU, CZ, DM, DZ, EC, EE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KP, KR, LC, LK, LR, LS, MA, MG, MN, MX, NO, NZ, PL, SG, SK, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ZA.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(48) Datum der Veröffentlichung dieser berichtigten Fassung:
11. Juli 2002

(15) Informationen zur Berichtigung:

siehe PCT Gazette Nr. 28/2002 vom 11. Juli 2002, Section II

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

A1

(54) Title: MEDICAL AND DIAGNOSTIC USE OF A SPECIFIC CO-ACTIVATOR FOR HUMAN NUCLEAR RECEPTORS

WO 02/036621

(54) Bezeichnung: MEDIZINISCHE UND DIAGNOSTISCHE VERWENDUNG EINES SPEZIFISCHEN CO-AKTIVATORS FÜR HUMANE NUKLEÄRE REZEPTOREN

WO 02/036621 A1

(57) Abstract: The invention relates to the use of a cloned gene which codes for a protein which in humans, acts as a co-activator of hormone receptors, especially of the androgen receptor; as an important component of clinical tests for diagnosing diseases in humans.

(57) Zusammenfassung: In der Erfindung wird die Anwendung ein geklontes Gen beschrieben, welches für ein Protein kodiert, das beim Menschen als Co-Aktivator von Hormonrezeptoren insbesondere des Androgenrezeptors fungiert, als wichtiger Bestandteil von klinischen Tests zur Diagnostizierung von Erkrankungen beim Menschen.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)